

Определение содержания алкоголя в крови с использованием системы ГХ Agilent 8890 с двумя ПИД и парофазным пробоотборником Agilent 8697

Автор

Эбби Фозетт (Abbey Fausett)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Разрешенное содержание алкоголя в крови (САК) для водителей автомобилей в каждой стране свое, однако во многих из них этот предел составляет либо 0,5, либо 0,8‰. Статистическая оценка данных, полученных с использованием парофазного пробоотборника Agilent 8697, подключенного к системе ГХ Agilent 8890, демонстрирует исключительную линейность при определении этанола в диапазоне от 0,2 до 4‰. Система оборудована двумя колонками и двумя ПИД и демонстрирует воспроизводимость между виалами, равную 0,05% концентрации, с ОСО ниже 2% для большинства спиртов и соединений с карбонильными группами в смеси.

Введение

Газовая хроматография — это общепринятый метод определения содержания алкоголя в крови в юридической, судебно-медицинской и диагностической практике. Кровь — это очень сложная смесь в основном нелетучих соединений. Это делает практически невозможным прямой ввод цельной крови, как это обычно делается с большинством проб в газовой хроматографии. Низкомолекулярные спирты и/или их метаболиты, которые присутствуют в крови в случае алкогольного опьянения или употребления алкоголя, намного более летучие, чем остальные компоненты крови, что позволяет определить их парофазным пробоотбором.

Пробоотборник, который позволяет извлечь из пробы летучие соединения, не только избавляет от большинства сложностей, связанных с пробоподготовкой, но и снижает вероятность человеческой ошибки. Парофазный пробоотборник Agilent 8697 использует хорошо зарекомендовавшую себя петлевую систему в сочетании с усовершенствованным регулятором давления, встроенной коммуникацией с ГХ и некоторыми другими новшествами. Эти усовершенствования включают в себя пошаговую диагностику через браузерный интерфейс или с сенсорного экрана, индикаторные светодиоды, которые позволяют убедиться в правильном расположении лотка, и усиленную транспортную линию. Схожесть

наборов параметров различных зон позволяет легко переносить на него имеющиеся методики парофазного пробоотборника Agilent 7697A^{1, 2, 3}.

Экспериментальная часть

Взятые парофазным пробоотборником Agilent 8697 пробы анализировались с помощью системы ГХ Agilent 8890 с испарителем с делением и без деления потока и двумя пламенно-ионизационными детекторами

(ПИД). Больше информации о системе приведено на рис. 1, а список использованных аналитических стандартов и расходных материалов можно найти в табл. 1. Условия методики приведены в табл. 2. В качестве растворителя и внутреннего стандарта использовался 1 л воды (из системы Millipore), содержащий 0,1% (об/об) *t*-бутанола. Во флаконы для парофазного пробоотборника помещались 0,5 мл пробы и 50 мкл стандарта в 450 мкл раствора *t*-бутанола в воде.

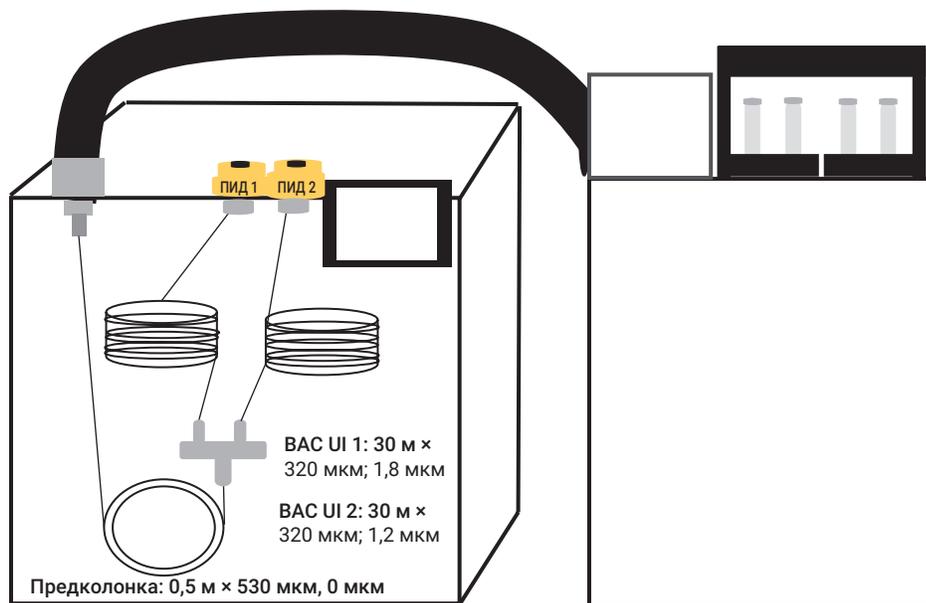


Рисунок 1. Подробности конфигурации системы ГХ с парофазным пробоотборником, использованной в работе.

Таблица 1. Расходные материалы и стандарты, использованные в исследовании.

Расходные материалы		Стандарты		Производитель	Испытание
Виалы объемом 20 мл и обжимные крышки	Кат. № 5190-2286	Смесь для проверки разрешения анализа САК	5190-9765	Agilent	Разрешение
Лайнер ГХ (с внутренним диаметром 2 мм)	Кат. № 5190-6168	Калибровочный стандарт этанола	G3440-85035	Agilent	Линейность
Транспортная линия (из деактивированного плавяного кварца)	Внутренний диаметр 0,53 мм	<i>t</i> -Бутанол, > 99%	24127	Millipore/Sigma	
Колонки		Специальные растворители	Специальные	Restek	Воспроизводимость
Предколонка: 0,5 м × 0,53 мм × 0 мкм	Кат. № 160-2535-10				
Колонка 1: Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 м × 0,32 мм × 1,8 мкм)	Кат. № 123-9334UI				
Колонка 2: Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 м × 0,32 мм × 1,2 мкм)	Кат. № 123-9434UI				

Таблица 2. Условия методик парофазного пробоотбора и ГХ, использованных в работе.

Параметры парофазного пробоотборника Agilent 8697	
Температура термостата	70 °C
Температура в петле	80 °C
Температура транспортной линии	90 °C
Уравновешивание виалы	7 мин
Время ввода пробы	1 мин
Объем виалы	20 мл
Режим наддува виалы	По умолчанию
Давление наддува	15 psi (1,03 бар)
Газ наддува	Азот
Режим наполнения петли инжектора	Настраиваемый
Конечное давление петли инжектора	1,5 psi
Уравновешивание петли	0,05
Объем петли	1 мл
Параметры системы ГХ Agilent 8890	
Температура испарителя	150 °C
Коэффициент деления потока	10 : 1
Режим	Постоянное давление
Входное давление	21 psi (гелий)
Термостат	40 °C, изотермический в течение 5 минут
Температура ПИД (обоих)	250 °C
Расход воздуха	400 мл/мин
Расход водорода	30 мл/мин
Газ подпитки (N ₂)	25 мл/мин

Результаты и их обсуждение

Для оценки аналитических характеристик парофазного пробоотборника Agilent 8697 использовались три теста: линейность калибровочной кривой для этанола, воспроизводимость между виалами и разрешение пиков в стандартной смеси для определения содержания алкоголя в крови.

Линейность калибровочной кривой этанола

Калибровочная кривая строилась по шести точкам с концентрацией от 0,02 до 0,4 мг/дл. Отдельные графики полученных в эксперименте калибровочных кривых приведены на рис. 2. Кривая строилась с использованием

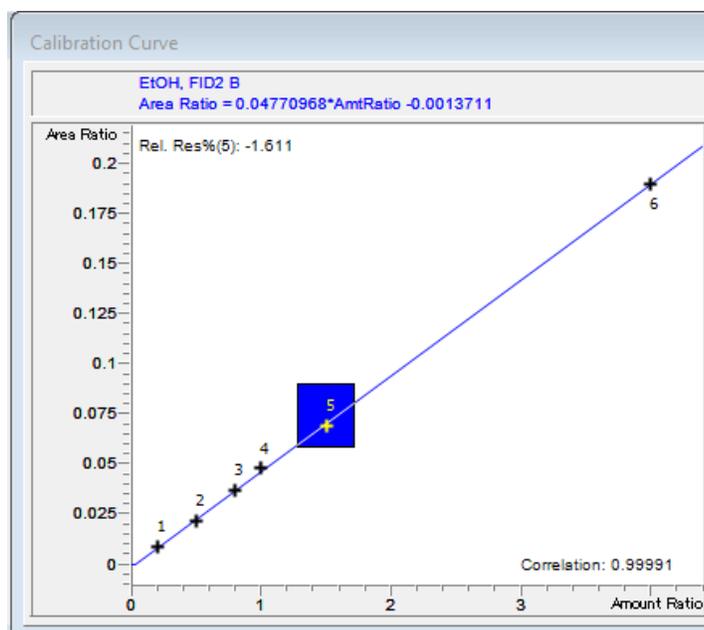
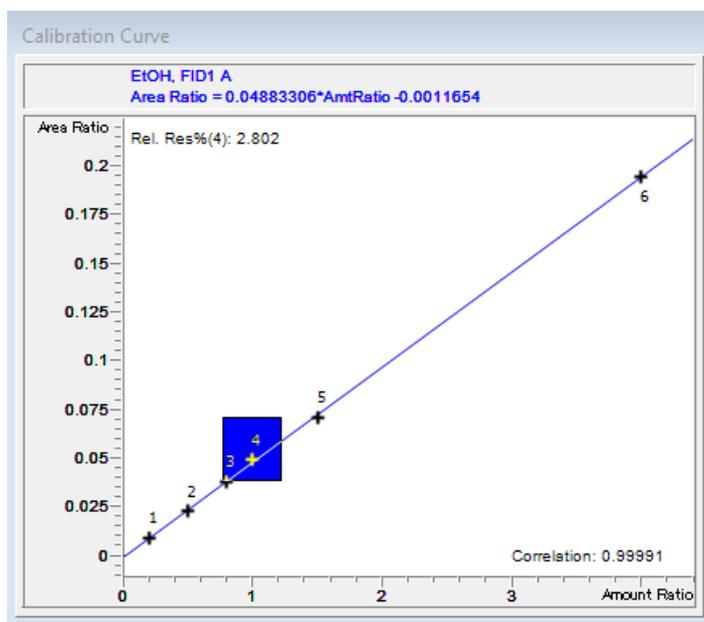


Рисунок 2. Калибровочные графики для этанола для обоих ПИД для концентраций в диапазоне от 0,02 до 0,4 мг/дл.

внутреннего стандарта (т-бутанола) и относительных концентраций без использования весовых коэффициентов. Эксперимент для проверки линейности калибровочной кривой этанола повторялся несколько раз, и во всех случаях значение R^2 в этом диапазоне превышало 0,9995.

Воспроизводимость

Испытание повторяемости выполнялось с использованием многокомпонентного раствора, который добавлялся к раствору внутреннего стандарта в воде в таком количестве, чтобы в каждой виале получился раствор с концентрацией 0,05 мг/дл. В табл. 3 приведена информация о времени удерживания и воспроизводимости для каждого из соединений относительно внутреннего стандарта (*t*-бутанола) в течение 12 последовательных анализов.

Разрешение

Использование для подтверждения пары колонок, Agilent J&W DB-BAC1 и DB-BAC2 UI, в этих условиях обеспечивает хорошее разрешение отдельных пиков. Поток можно увеличить или уменьшить в зависимости от отдельных соединений в списке и от требований к их разрешению. Хроматограммы для обеих колонок приведены на рис. 3, а соответствующие времена удерживания и данные по разрешению — в табл. 4.

Таблица 3. Воспроизводимость между виалами для стандартной смеси для определения САК.

Соединение	ПИД 1		ПИД 2	
	ВУ	ОКЧ	ВУ	ОКЧ
Метанол	0,03%	2,06%	0,03%	1,72%
Ацетальдегид	0,04%	2,09%	0,00%	2,11%
Этанол	0,00%	2,16%	0,02%	1,69%
Изопропанол	0,02%	1,49%	0,03%	1,34%
Ацетон	0,02%	0,74%	0,00%	1,01%
Пропанол-1	0,04%	1,90%	0,02%	1,61%
Бутанон-2	0,04%	2,74%	0,02%	2,68%

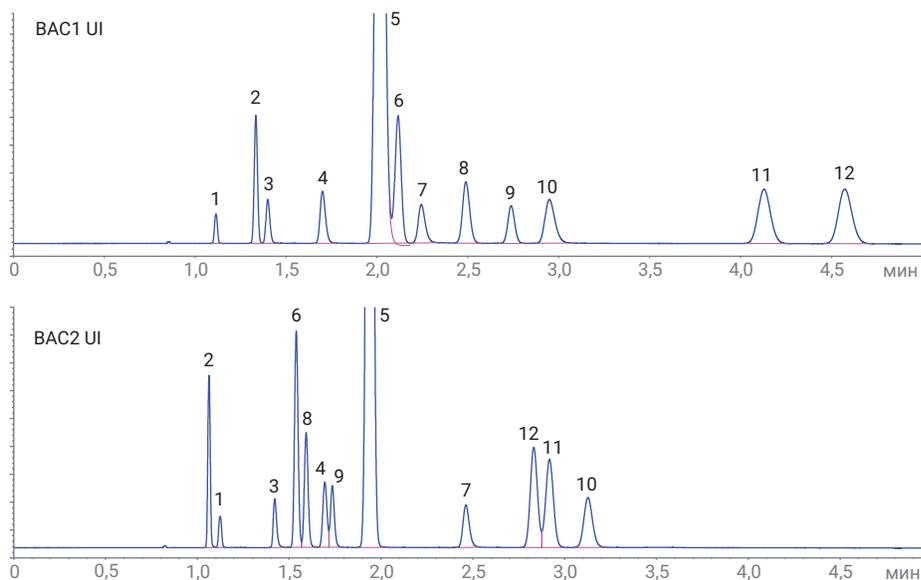


Рисунок 3. ПИД-хроматограммы смеси для проверки разрешения анализа на САК Agilent на колонках Agilent J&W DB-BAC1 UI и DB-BAC2 UI.

Таблица 4. Идентификация пиков, времена удерживания и расчетное разрешение (Фарм. США) для колонок BAC1 UI и BAC2 UI.

№ пика	Название соединения	ВУ для BAC1 UI (мин)	Разреш. для BAC1 UI	ВУ для BAC2 UI (мин)	Разреш. для BAC2 UI
1	Метанол	1,071		1,081	2,7
2	Ацетальдегид	1,284	7,9	1,022	
3	Этанол	1,348	2,0	1,371	11,5
4	Изопропанол	1,644	7,2	1,640	3,1
5	<i>t</i> -Бутанол	1,953	5,2	1,881	5,3
6	Пропаналь	2,048	1,3*	1,485	4,1
7	<i>n</i> -Пропанол	2,175	2,0*	2,388	10,6
8	Ацетон	2,412	3,8	1,538	1,8
9	Ацетонитрил	2,65	3,9	1,674	1,1
10	Бутанол-2	2,867	3,0	3,043	3,3
11	Этилацетат	4,027	12,4	2,84	1,6
12	Бутанон-2	4,456	4,1	2,753	7,1

Значения разрешения в таблице определялись для соответствующего пика и пика, непосредственно ему предшествующего. Значения разрешения для пропаналя и *n*-пропанола рассчитывались вручную. Чтобы обеспечить стабильность интенсивности сигнала внутреннего стандарта (*t*-бутанола) для всех калибровочных стандартов и смесей для проверки разрешения в параметрах интегрирования, включалась аппроксимация хвоста пика с помощью касательной. Этот параметр отключал автоматический расчет ширины пиков по касательным, который необходим для расчета разрешения в соответствии с требованиями Фарм. США (рис. 4). Так как порядок выхода пиков для обеих колонок различается, плохо разделяемые на колонке 1 соединения лучше разделяются на колонке 2, что хорошо демонстрирует взаимодополняющий характер такого подтверждающего анализа. Также в качестве внутреннего стандарта может применяться *n*-пропанол.

Характеристики пиков, такие как ширина и симметрия, — это хорошие индикаторы общего состояния системы и расходных материалов. Системы ГХ Agilent 8890 и ГХ Agilent Intuvo 9000 предлагают функцию «Оценка пиков»⁴, которая позволяет следить за основными характеристиками методики и предупреждает пользователя об их малейших изменениях до того, как они приведут к падению производительности. Простое обновление встроенного ПО позволяет пользователям имеющих газowych хроматографов получить доступ к этой функции.

www.agilent.com/chem

Для использования в криминалистике.

RA44246.726412037

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2021
Напечатано в США 8 марта 2021 г.
5994-3126RU

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

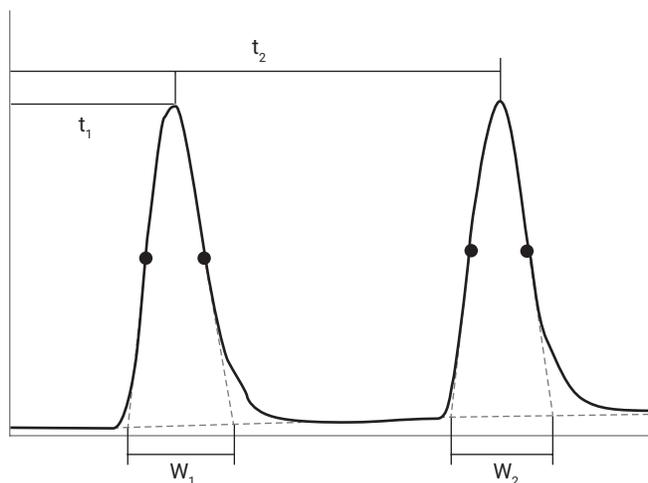


Рисунок 4. Расчет разрешения в соответствии с требованиями Фарм. США с использованием пакета Agilent OpenLab ChemStation, версия C.1.10.

Выводы

Парофазный пробоотборник Agilent 8697 обеспечивает простой перенос методик и параметры, эквивалентные парофазному пробоотборнику Agilent 7697A. Основное преимущество Agilent 8697 состоит в том, что он имеет встроенную коммуникацию с ГХ и поддерживает все его интеллектуальные функции, улучшенные возможности пользовательской диагностики и простой доступ к информации, которая повышает эффективность технического обслуживания, эксплуатации и устранения неисправностей пользователем.

Литература

1. Analysis of Blood Alcohol Concentration with an Agilent Intuvo 9000 GC System. Рекомендации по применению Agilent Technologies, номер публикации 5991-8999EN, **2020**.

2. Abercrombie, V. Improved Resolution and Peak Shape Performance for the Determination of Blood Alcohol Concentration Using Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert and DB-BAC2 Ultra Inert Columns. Рекомендации по применению Agilent Technologies, номер публикации 5991-8206EN, **2017**.
3. Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. Судебно-медицинская экспертиза концентрации алкоголя в крови. Рекомендации по применению Agilent Technologies, номер публикации 5994-0443RU, **2019**.
4. Agilent Technologies: GC Intelligence. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (по сост. на 16 февраля 2021 г.)